

ナノ材料の経皮吸収性から皮膚の安全性を考える

杉 林 堅 次

ナノ材料の経皮吸収性から皮膚の安全性を考える

杉林 堅次

Abstract : Skin safety of nanomaterials was predicted by considering their skin penetration. Human skin is a biological membrane having both properties for "dissolution-diffusion membrane" and "microporous membrane". We then determined nanomaterial penetration through hair follicles-free three-dimensional cultured human skin models and hair follicle-existed animal skins. The obtained results suggest that the nanomaterials may be penetrated into skin through micropores such as hair follicles and no clear evidence was observed for further migration of nanomaterials to biological cells. Thus, most nanomaterials must be safe, unless the materials themselves are very toxic to biological cells. Detail assessment should be necessary for ensuring the safety concerns of nanomaterials.

Key words : nanomaterials, safety, skin penetration, titan oxide nanoparticles, zinc oxide nanoparticles

1. はじめに

ナノメートルスケールのマテリアル科学の発展は著しく、合成、物性、機能に関する様々な可能性が検討されている。特に、生体適合機能性材料、自己組織化などを利用した超微細構造体、分子認識および情報伝達機能材料など、将来有望なナノマテリアルが広範な分野に亘って研究・検討されている。化粧品にも微粒子酸化チタンや酸化亜鉛をはじめ多くのナノマテリアルが用いられるようになった。

このようなナノ材料は果たして安全であろうか。皮膚刺激性や感作性が生じないのであろうか。

また、繰り返し適用することで重篤な皮膚毒性が現われることがないであろうか。工業生産されたナノ材料の安全性については、今まさに世界的な議論になっている。現在、ナノ材料は炭素ベース材料、金属ベース材料、 dendrimer、複合物の4種に分類されている。この中で、すでに使用量が多いのは、前述した酸化亜鉛や酸化チタンがあり、今後かなり伸びそうなのがフラーレンやカーボンナノチューブがあると言われている¹⁾。

ここでは、主にこれらナノ材料の経皮吸収性を予測し、この予測結果をもとにナノ材料の皮膚への安全性を推定することとする。

2. 物質の経皮吸収性と分子サイズ

物質のサイズ（分子量や分子容）は経皮吸収性に大きく影響を及ぼす。医薬品の経皮吸収型製剤（Transdermal delivery systems, TDDS）が世に出始めた頃から、主に薬学（薬剤学）分野の研究者から、種々薬物の経皮吸収性とこれらの分子量さらには極性（ここではn-オクタノール／水分配係数）の関係が取り出されていた。このことに対する研究成果は、すでに種々物質の経皮吸収性と

"Safety concerns of nanomaterials to skin: Safety and skin penetration of nanomaterials."

Kenji Sugibayashi (Faculty of Pharmaceutical Sciences, Josai University, 城西大学薬学部薬粧品動態制御学講座—350-0295 埼玉県坂戸市けやき台1-1)



1985年城西大学薬学部講師、89年助教授、98年同教授、現在、城西大学薬学部薬粧品動態制御学講座教授、同生命科学研究所長、薬科学科主任。日本香粧品科学会理事、日本実験動物代替法学会評議員、他。

これらの物性パラメータとの関係式として報告されている（20以上もの関係式が報告されている。VecchiaとBungeらの総説^{2) 3)} によくまとめられているので参照されたい）。これらの関係式の中で最もよく引用されているのがPottsとGuyによって発表された次式である⁴⁾。

$$\log P = -6.22 \cdot 10^{-4} + 2.25 \cdot 10^{-4} \log K_{ow} - 3.61 \cdot 10^{-6} MW \quad (1)$$

ここで、 P はそれぞれの物質の透過係数（cm/s）、 K_{ow} はn-オクタノール／水分配係数、さらに MW は分子量（ダルトン）である。経皮吸収を理解するとき、透過係数 P は極めて重要である。 P は物質が単位時間当たりに皮膚バリアーをどのくらいの距離進むかの目安となる。PottsとGuyはFlynnによって試験された種々物質のヒト皮膚透過性データを⁵⁾を解析し、式1を導き出している。

ここでは、n-オクタノール／水分配係数が顕著に異なる仮想3物質（ K_{ow} が100、1または1/100）を例にとり、これらの皮膚透過性（ $\log P$ ）と分子量（ $\log MW$ ）の関係を式1により計算した。図1にその結果を示す。分子量が750ダルトン付近であれば、 K_{ow} が100の脂溶性物質で 1.0×10^{-9} cm/sより少し小さい値、1/100の親水性物質で 1.0×10^{-12} cm/s程度、さらにこの中間である K_{ow}

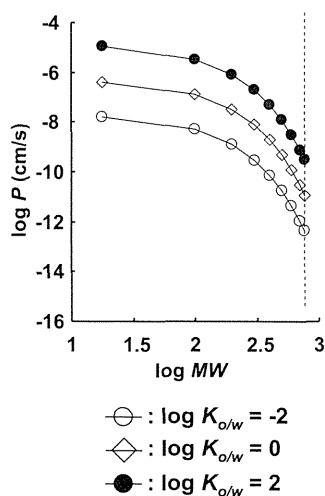


図1 3種仮想物質の皮膚透過性（ $\log P$ ）に及ぼす分子量（ $\log MW$ ）の影響

が1の物質では 1.0×10^{-11} cm/sより少し大きい値であることを示している。しかし、残念なことに本研究は最大分子量750ダルトンまでの物質にしか対応していない。

ただし、 P に関し吸収（皮膚透過）しない限界値があることに注意を払わなければならない。部位にもよるが通常角層は20ミクロン程度の厚みがあり、約20層のコーニオサイトからなると言われている。また、コーニオサイトは表面から一日一層が剥がれ落ちる（落屑する）。この落屑速度は、透過係数と同じ次元を使えば 1.0×10^{-9} cm/s程度となる。すなわち、 P がこの値以下であるならば、その物質は角層一層目を浸入している間にその角層一層目自体が皮膚から剥がれ落ちることになり、皮膚の深部には到底浸透できないことになる。

一方、皮膚科医（BosとMeinardi）からの興味ある報告に「分子量500ダルトン限界説（500 Dalton rule）」がある⁶⁾。彼らは、(1) 現在までに皮膚感作性を示す物質の分子量のほとんどが500ダルトン以下であること、また、(2) 皮膚組織に薬物を送達するいわゆる局所作用を期待する医薬品製剤やまた(3) 全身吸収性を期待して皮膚に適用するTDDS中に含まれる薬物はほとんどが分子量500ダルトン以下であることを基準としてこの経験説を提唱している。以上、ここで注目すべきは、薬学関係者や皮膚科学研究者から結局のところナノ材料どころか分子量が1000ダルトンを超える物質の経皮吸収性はほとんど無視しうることが示されていることである。

しかし、極めて興味あることに、ナノ材料が皮膚に浸透したと述べる報告も数多く見られる。それらのうちいくらかは実験法に問題があるものや再現性に乏しいと思われるものもあるが、今後詳細に検討が必要と思われる重要な情報を含んでいるものもある。その代表的なものにBaroliらの研究⁷⁾が挙げられる。彼らはいわゆる皮膚透過することはないものの、皮膚上層にはナノ材料が浸透すると述べている。角層のクラック部分や汗腺や脂腺などの付属器官にナノ材料が浸透する可能性は十分ありうると考えられる。

3. 物質の皮膚透過経路

物質の皮膚透過経路については1973年にScheupleinが角層を通る実質層経路と付属器官を通るshunt経路についての考え方を提唱⁸⁾して以来、残念ながら目立った進歩はない。これは主に1980年代から現在まで経皮吸収の研究対象になったのが、脂溶性でかつ低分子薬物であったことにも起因する。さらに、低濃度の物質の定量が難しいことや、皮膚断面の形態を調べるにも十分な方法がなかったことにも関係すると思われる。

よく知られているように、皮膚は表皮、真皮、皮下組織からなる多層膜であり、皮膚表面の角層を通る拡散が最も遅いため、この層の透過が律速となると考えられている。Scheupleinが提唱したように、低分子の皮膚付属器官を介する拡散速度は角層実質部を介する拡散速度より10倍程度高いといわれているが、付属器官の占める面積が角層実質部の0.1%程度しかなく、また、特に低分子脂溶性物質では一般に基剤から角層への分配係数も高いことから、このような物質の透過経路のほとんどは角層実質部にあると断定できる。図1に示した予測値は角層の透過速度を基準に計算したものと考えることができる。

しかし、我々は現在、高分子になればなるほど経角層実質経路よりむしろ毛嚢や汗腺などの経付属器官ルート(shuntルート)の寄与を考慮する必要があるのではないかと考えている。

4. 皮膚は溶解拡散膜かそれとも細孔膜か

一般に物質を透過させる膜は溶解・拡散膜か細孔膜に分類分けすることができる。それならば、さて皮膚はどちらの膜に分類されるのであろうか。医薬品の経皮吸収ではそのほとんどが500ダルトンまでの分子量のものを対象としていた。したがって、前述したPottsとGuyによって提唱された式も皮膚を溶解拡散膜として捉えていたものと考えられる。さらに、対象とした物質の透過経路も、結果から考えると主に経角層実質経路であると考えられる。すなわち、分子量500ダルトン(多く見積もっても750ダルトンまで)までの物質、特に脂溶性物質は角層の主に細胞間脂質中に

溶解し拡散して皮膚の深部に移行していくものと考えられる(なお、ここでは顆粒層以下の生きた表皮や真皮の透過ルートについては、それらを介する透過が角層の透過に比べ極めて速いため言及していない)。

なお、ここで注意しておくべきは、分子量(分子容)と分子径との関係をしっかり理解しておくことである。そこで、限外濾過膜の分離特性を調べるためのマーカー分子を例として、これらの分子量と分子径の関係を表1に示す。分子量500ダルトンでは分子径は1 nm程度である。分子径が5 nmは分子量では3~4万ダルトンに相当する。皮膚が3~4万ダルトンの分子を透過させるなら、我々はタンパクをはじめとする種々物質が簡単に皮膚を透過するという結論に達してしまう。このようにナノ材料の経皮吸収性は簡単には引き起こされないことがわかる。また、ナノ材料は一般に凝集していることが多く、これがさらに皮膚透過性を下げる原因になっていると思われる。

ナノ材料といっても種々サイズが考えられるので、ここでは比較的小さいサイズのナノ材料として粒径10 nm程度の単分散材料を想定して経皮吸収性について考えることにする。このナノ材料が球形であると仮定すると、粒径が5 nmから10 nmへの倍になると分子容(分子量)は8倍になる。

表1 限外濾過膜の分離特性を調べるためのマーカー分子

	分子量 [g/mol]	分子径(推算) [nm]
スクロース	340	1.1
ラフィノース	590	1.3
ビタミンB12	1,360	1.7
バシトラシン	1,410	1.7
インスリン	5,700	2.7
チトクロームC	13,400	3.8
ミオグロビン	17,000	4.0
α -キモトリシノーゲン	25,000	4.6
ペプシン	35,000	5.0
オボアルブミン	43,000	5.6
仔牛アルブミン	67,000	6.4
アルドラゼ	142,000	8.2
γ -グロブリン	150,000	8.4

前述したように、分子径が5 nmでは3～4万ダルトンであれば（ペプシンやオボアルブミンが球形と仮定すれば）、分子径が10 nmの分子量は24～32万ダルトンにもなる。このような高分子量のナノ材料が、例えば角層間脂質に溶解するのであろうか。現在、特に化粧品業界で最も問題になっているのは前述した酸化チタンや酸化亜鉛のナノパーティクルである。少なくともこれらは角質細胞間脂質には溶解しない。したがって、これら酸化チタンや酸化亜鉛ナノ材料は溶解拡散膜には透過しないものと考えられる。ゆえに、これらの材料については皮膚の細孔膜部分に侵入する可能性について実験・考察しなければならない。

5. 三次元培養ヒト皮膚モデルを用いた評価

我々はすでに、三次元培養ヒト皮膚モデルLSE-high（東洋紡）が水溶性から脂溶性までの低分子薬物の皮膚透過性評価さらにはヒト実質皮膚への皮膚透過性の予測に有用であることを報告している⁹⁾。LSE-highは毛嚢も汗腺もない。そこで、我々はLSE-highと毛嚢や汗腺を有するラットやブタ皮膚を介する水溶性高分子やナノ材料の透過性を測定・比較した（投稿準備中）。その結果、（1）ナノ材料だけでなく分子量数千ダルトンの水溶性高分子はLSE-highを透過しないこと、また、（2）動物皮膚は透過性は低いものの水溶性高分子を透過させること、さらに（3）ナノ材料が毛嚢奥深く侵入すること、を明らかにした。これらの情報と前述したBaroliらの研究⁷⁾報告を併せて考えると、水溶性高分子やナノ材料は少なくとも皮膚の細孔に侵入すると思われる。

6. ナノ材料の皮膚中濃度から安全性を推定できるか

皮膚の細孔部分に存在する細胞は直接ナノ材料

にさらされる可能性がある。したがって、ナノ材料の安全性は万全ではないとも考えられる。しかし、いわゆる透過係数 P を用いて考えた場合、ナノ材料の皮膚透過性はゼロまたはそれにきわめて近い値になると推定される。生細胞にさらしても毒性がほとんどなく、また蓄積性がないナノ材料の場合は、きわめて安全であると予想される。

しかし、安全性研究は時の科学レベルによって決まるものであり、最新の研究機器や手段を用いて、広範に研究する必要があるのは疑うべきもない。

参考文献

- 1) 中西準子, 化学と工業, **59**, 454～455 (2006)
- 2) Vecchia, B.E., Bunge, A.L., Evaluating the transdermal permeability of chemicals, in Transdermal Drug Delivery, 2nd ed., by Guy, R.H., Hadgraft, J. (eds.), Marcel Dekker, Inc., New York and Basel, Chapter 2, p.25～56 (2003)
- 3) Vecchia, B.E., Bunge, A.L., Skin absorption databases and predictive equations, in Transdermal Drug Delivery, 2nd ed., by Guy, R.H., Hadgraft, J. (eds.), Marcel Dekker, Inc., New York and Basel, Chapter 3, p.57～142 (2003)
- 4) Potts R.O., Guy, R.H., *Pharm. Res.*, **9**, 663～669 (1992)
- 5) Flynn, G.L., Physicochemical determinations of skin absorption, In Principles of Route-to-route extrapolation for risk assessment, Gerrity, T.R., Henry C.J. (eds.), Elsevier, New York, p.93～127 (1990)
- 6) Bos, J.D., Meinardi, M.M., *Exp. Dermatol.*, **9**, 165～169 (2000)
- 7) Baroli, B. et al., *J. Invest. Dermatol.*, **127**, 1701～1712 (2007)
- 8) Scheuplein, J. *Invest. Dermatol.*, **48**, 79～88 (1967)
- 9) Watanabe, T. et al., *Alternative Animal Test. Experiment.*, **8**, 1～14 (2001)